

同センターの血液製剤冷蔵保管庫、製剤作業室、および製剤課管理室(事務室)内空気中の VOC を 0.1L/分の流速で活性炭捕集管(OLBO91L, スペルコ)に 24 時間通して捕集後、二硫化炭素 2mL で溶出した。その溶液に内部標準物質としてトルエン-d8(100ppm メタノール溶液、2 μ L)を加え、GC/MS 分析に供した。

GC/MS 条件 装置: QP5050A(島津製作所) カラム: DB-1(0.25mm i.d. x 60m、膜厚: 1.0 μ m, J&W) カラム温度: 40 $^{\circ}$ C で 5 分間保持し、150 $^{\circ}$ C まで毎分 5 $^{\circ}$ C で昇温後、250 $^{\circ}$ C まで毎分 10 $^{\circ}$ C で昇温し、250 $^{\circ}$ C で 18 分保持。イオン源温度: 280 $^{\circ}$ C イオン化: EI、イオン化電圧: 70 eV、検出: SIM 法。

C. 結果と考察

1. 血液バッグからの溶出挙動

今回の調査対象は揮発性が高い化合物であり、また、血液バッグにはある程度のガス透過性がある。したがって、これら測定対象化合物はバッグから揮散し、別のバッグに移行する可能性が考えられる。特に血液製剤保管庫のように大量のバッグが常時保存されているような場所では、バッグから揮散した化合物の蒸気が充満していることが想定されることから、そのような環境が保存製剤に与える影響も評価する必要がある。そこで今回、愛知県赤十字血液センターで赤血球製剤が冷蔵保存されている保管庫内の VOC 濃度を測定した。その結果、表1に示したように保管庫内の THF(775 μ g/m³)、2-EH(21.0 μ g/m³)、およびトルエン(417 μ g/m³)の濃度が、隣接する製剤作業室

(THF、2-EH、トルエンがそれぞれ 7.4、7.1、29.9 μ g/m³)および製剤課管理室(事務室、5.1、8.1、67.4 μ g/m³)内の濃度よりも数倍～100 倍以上高いことが判明し、血液バッグから揮散した化合物が保管庫内に滞留していることが示唆された。そこで、今回の溶出挙動調査の対象化合物には、前回の THF および 2-EH にトルエンを加えるとともに、調査の実施場所に同保管庫を選択し、保存環境の影響評価も考慮して、実験には次のような方法を採用した。被験者の血液を調査対象血液バッグ 2 個に採取し、その一方を保管庫内に、もう一方を保管庫内に設けた清浄な環境下、すなわち、保管庫内に設置した活性炭デシケータに保存し、それぞれのバッグから経時的に血液をサンプリングする。保存期間は、輸血用赤血球製剤の保存期限と同じ 21 日間とし、サンプリング間隔は 7 日とする。サンプリングした血液は、赤血球と血漿に分離後、それぞれを試料として HS-GC/MS 分析を実施し、得られた各化合物の経時変化から溶出挙動を、また、活性炭デシケータの外側(保管庫内)と内側(保管庫内空気の影響を受けない場所)に保存した試料群の濃度差から、保存環境の影響を評価する。

国内メーカー 3 社(川澄、JMS およびテルモ)が製造した全血用シングルバッグを用いて得られた保存血液中の THF、2-EH、およびトルエンの経時変化を表 2 に、各バッグに封入されていた CPD 液(クエン酸ナトリウムを主成分とする抗凝固剤水溶液、1 バッグあたり 28mL)の分析結果を表 3 に示した。全ての血液試料から THF、2-EH、およびトルエンが検

出され、それらの濃度は時間とともに増加する傾向が認められた。また、活性炭デシケータの外側と内側に保存した試料群に顕著な濃度差が認められたのは、テルモ製バッグ中のトルエンのみであった。

表3に示したCPD液の分析結果より、テルモ製バッグ中に残留するトルエンの量(平均:0.11ppb)は、川澄(1.13ppb)およびJMS(3.10ppb)製に比べると1/10~1/30と非常に少なく、そこから溶出する量も少ないと推定された。そのため、このバッグにおいてのみ保存庫内の空気からバッグ血液に移行したトルエンが顕著に認められたものと考えられた。このような保存環境の影響は、THFや2-EHにおいても考えられるが、これらの溶出レベルはトルエンよりもワンオーダー以上高いことから、その影響の程度はバッグ自体からの溶出に比べると遙かに小さいと考えられた。

THFに関しては、川澄製バッグに保存された血液の濃度最高値(13.4ppm/血漿/14日、実験開始時:10.4ppm)はJMS(最高値:1.12ppm)やテルモ(最高値:0.27ppm)製に保存されたものよりも十倍以上高く、メーカーによる差が大きかった。濃度の増加は、いずれのバッグも非常に緩慢であり、最高でも採取直後の濃度の1.5倍程度であった。THFは水溶性が高く、バッグに混入したものの大部分はCPD液に溶け込んだ状態で存在しているため、採取直後の濃度が高く、その後の濃度変化は緩やかであったものと考えられた。

一方、2-EHの最高濃度値はJMS製バッグの3.75ppm(赤血球/21日、実験開始時:0.13ppm)であったが、THFと異なりメーカーに

よる格差はほとんど認められなかった。また、2-EHは低濃度から時間とともに急激に増加するという挙動が認められた。これらの結果は、2-EHはバッグの樹脂自体から溶出することともに、いずれのメーカーのバッグにも同じような材質の樹脂が使われていることを示唆するものと考えられた。また2-EHの血漿中濃度(3社平均:0.18ppm/0日、2.96ppm/21日)と赤血球中濃度(3社平均:0.56ppm/0日、2.96ppm/21日)には、採取直後には差が認められたが、21日後に両者はほぼ同じになるというように、赤血球と血漿では異なった挙動が認められた。

トルエンの最高濃度はJMS製バッグの45ppb(JMS/血漿/14日、実験開始時:13.6ppb)であり、川澄(最高値:26.9ppb)やテルモ(最高値:21.5ppb)製との比較から、メーカー間には多少の差があることが認められた。また、この化合物についても濃度上昇幅が比較的大きく、そのほとんどが樹脂自体から溶出することが示唆された。

2. 血液製剤の実態調査

日本赤十字社名古屋血液センターで分与を受けた期限切れの赤血球(有効期限:21日、保存温度:4~6℃)、血漿(有効期限:一年、保存温度:-20℃以下)、および血小板(有効期限:3日、保存方法:20~25℃)製剤中のこれら化学物質濃度の測定結果を、保存バッグのメーカー別に表4に示した。THFは0.007~76.9ppm、2-EHは0.18~39.9ppm、トルエンはND~92.2ppbと非常に広い範囲で検出され、これら化合物の残留には、以下に述べるように

保存製剤の種類や保存期間だけでなく、メーカーやバッグの材質、構造による違いが大きく関わっていることが示唆された。

赤血球は 43 試料(保存バッグ:川澄製 14、テルモ製 29)を分析し、THF が 0.40~76.9ppm、2-EH が 0.49~1.45ppm、トルエンが ND~11.3ppb の範囲で検出された。THF については前述した保存実験の結果と同様に、バッグメーカー間の差が大きく、川澄製バッグ(平均 63.5ppm)とテルモ製バッグ(平均 0.71ppm)の間には 100 倍近い開きがあった。また、これらの結果と表 2 に示した 21 日保存時の濃度(THF: 8.92-10.3ppm/川澄、0.17-0.24ppm/テルモ)とを比較したところ、両調査の検出濃度に乖離が認められた。赤血球が保存されているバッグは、容量が 400mL であり、採血時には血漿保存用のバッグ等と一体になった複雑な構造をしているだけでなく、製剤過程で血漿や白血球などとの分離処理が行なわれ、MAP 液(保存用の栄養液)添加などの操作が加えられるなど、溶出挙動調査に用いたシングルバッグとはいくつかの点で異なっている。また、これらのバッグは保存時には、数個から数十個がひとまとめてされてビニール袋に入れられていおり、保存状態も同一ではなかった。このようなバッグの構造の違いや処理操作が、上述した検出濃度の乖離を生じた原因であると推察された。

血漿については 47 試料(保存バッグ:川澄製 18、テルモ製 29)を分析し、THF が 0.36~39.9ppm、2-EH が 0.89~1.68ppm、トルエンが 2.4~16.2ppb の範囲でそれぞれ検出された。この試料についても、川澄製バッグ(平均

30.3ppm)とテルモ製バッグ(平均 0.36ppm)の間で THF 濃度が大きく異なっていた他に、表 2 に示した 21 日保存時の濃度(THF: 11.0-13.0ppm/川澄、0.20-0.27ppm/テルモ)の間には、赤血球と同様に検出濃度の乖離が認められた。その原因については、赤血球で述べたバッグ構造の違いや処理操作の他に、保存条件や保存期間(-20℃以下で1年)の違いが考えられた。

血小板については 23 試料(保存バッグ:川澄製 14、バクスター製 5、コープ製 4)を分析し、THF が 0.007~0.361ppm、2-EH が 1.39~3.50ppm、トルエンが 10.2~46.3ppb の範囲でそれぞれ検出された。THF の濃度については、赤血球や血漿と比べると濃度レベルが低く、ばらつきが大きかったが、メーカー間の違いは赤血球や血漿ほど大きくはなかった。一方、2-EH の濃度は赤血球や血漿とほぼ同レベルにあったのに対し、トルエンの濃度は赤血球や血漿と比べワンオーダー高いという傾向にあった。血小板は成分採血により採取され、ガス透過性が高いポリオレフィン系樹脂製バッグ中で、20~25℃と比較的高い温度条件下で振とうしながら 3 日を限度として保存される。ガス透過性の高いバッグの使用や振とう操作は、THF が揮散して減少する要因になる反面、トルエンなど保存環境中に高濃度に存在する揮発性化合物がバッグ中に移行し、それらの濃度が上昇する要因にもなり得るとともに、高い保存温度はバッグ内に混入した DEHP の酵素分解を促進し、2-EH が増加する要因となるなど、様々な増減要因が考えらる。したがって、この試料に関しては今後、さらに詳細な検討を加

えるが必要であると考えられた。

D. 結論

昨年度確立した分析法を用いて国内メーカー3社(川澄、JMS およびテルモ)の血液バッグから保存血液中に溶出する THF、2-EH、およびトルエンの経時変化を調査するとともに、バッグの保存場所として使用した愛知県赤十字血液センターの血液製剤保存庫の保存環境調査を実施した。さらに、同センターで期限切れのため廃棄処分となった血液製剤 113 試料(赤血球 43、血漿 47 および血小板 23)の分与を受け、これら製剤中に残留する上記化合物の実態を調査し、以下の結論を得た。

1. 血液バッグから血液中に溶出する THF、2-EH、およびトルエンの量は、時間とともに増加し、それぞれの最高濃度は、THF が 13.4ppm(川澄/血漿/14 日、実験開始時: 10.4ppm)、2-EH が 3.75 ppm(JMS/赤血球/21 日、実験開始時:0.13ppm)、トルエンが 45ppb(JMS/血漿/14 日、実験開始時: 13.6ppb)であった。THF は保存開始時の濃度が高く、その時間的な増加は非常に緩やかであったのに対し、2-EH は低い濃度から時間とともに急激に増加するという特徴が、また、トルエンには両者の中間的な増加挙動が認められた。加えて、THF 濃度に関してはメーカー間に大きな差が存在することが明らかとなった。
2. 愛知県赤十字血液センターの血液製剤保管庫内の VOC 濃度を測定したところ、高い濃度の THF ($775 \mu\text{g}/\text{m}^3$)、2-EH ($21.0 \mu\text{g}/\text{m}^3$)、およびトルエン ($417 \mu\text{g}/\text{m}^3$) が検出

された。しかしながら、同庫内に設置した活性炭デシケータを用いての保存実験より、これら保存環境中に存在する化合物が血液製剤に移行する量は、バッグからの溶出量に比べると格段に少ないことが示唆された。

3. 期限切れ血液製剤を分析したところ、THF が 0.007 ~ 76.9ppm、2-EH が 0.18 ~ 39.9ppm、トルエンが ND~92.2ppb と非常に広い範囲で検出され、これら化合物の残留には、保存製剤の種類や保存期間だけでなく、メーカーやバッグの材質、構造による違いが大きく関わっていることが示唆された。

謝辞

本研究を行なうにあたり、血液バッグへの採血、保存場所の提供および期限切れ血液製剤の分与など全面的な協力をいただきました愛知県赤十字社血液センターに深謝いたします。

表 1 保存庫内の環境測定結果

単位; $\mu\text{g}/\text{m}^3$

| 測定化合物 | 測定場所 | | |
|-------------------|---------|-------|-------------|
| | 血液製剤保管庫 | 製剤作業室 | 製剤課管理室(事務室) |
| テトラヒドロフラン | 775 | 7.4 | 5.1 |
| 2-エチル-1-ヘキサノール | 21.0 | 7.1 | 8.1 |
| トルエン | 417 | 29.9 | 67.4 |
| ベンゼン | 4.9 | 4.2 | 4.0 |
| <i>m, p</i> -キシレン | 5.2 | 4.4 | 4.8 |
| <i>o</i> -キシレン | 4.3 | 3.8 | 3.8 |
| エチルベンゼン | 8.1 | 6.4 | 4.1 |
| スチレン | 2.9 | 2.5 | 2.2 |
| パラジクロロベンゼン | 1.9 | 1.9 | 4.9 |
| ナフタレン | ND | ND | ND |
| メチルエチルケトン | 29.5 | 10.7 | 10.1 |
| 酢酸エチル | 222 | 10.7 | 8.2 |
| <i>n</i> -ヘキサン | 6.1 | 4.9 | 4.6 |

ND: 1.0未満

表2 血液バッグから溶出する THF、2-EH、およびトルエンの経時変化

| テトラヒドロフラン (THF, n=1) | | | 単位 ; ppm | | | |
|----------------------|------|------|----------|------|------|------|
| 保存場所 | 測定試料 | メーカー | 保存期間 (日) | | | |
| | | | 0 | 7 | 14 | 21 |
| 血液製剤保管庫 | 赤血球 | 川澄 | 7.26 | 8.50 | 8.57 | 8.92 |
| | | JM S | 0.48 | 0.57 | 0.71 | 0.72 |
| | | テルモ | 0.13 | 0.17 | 0.25 | 0.24 |
| | 血漿 | 川澄 | 9.47 | 10.1 | 11.4 | 11.0 |
| | | JM S | 0.65 | 0.75 | 0.81 | 0.86 |
| | | テルモ | 0.15 | 0.19 | 0.24 | 0.27 |
| 活性炭デシケータ | 赤血球 | 川澄 | 8.32 | 9.34 | 9.82 | 10.3 |
| | | JM S | 0.62 | 0.72 | 0.82 | 0.84 |
| | | テルモ | 0.12 | 0.13 | 0.18 | 0.17 |
| | 血漿 | 川澄 | 10.2 | 12.0 | 13.4 | 13.0 |
| | | JM S | 0.77 | 0.93 | 0.98 | 1.12 |
| | | テルモ | 0.14 | 0.17 | 0.17 | 0.20 |

| 2-エチル-1-ヘキサノール (2-EH, n=1) | | | 単位 ; ppm | | | |
|----------------------------|------|------|----------|------|------|------|
| 保存場所 | 測定試料 | メーカー | 保存期間 (日) | | | |
| | | | 0 | 7 | 14 | 21 |
| 血液製剤保管庫 | 赤血球 | 川澄 | 0.14 | 1.19 | 1.27 | 2.12 |
| | | JM S | 0.13 | 1.45 | 1.96 | 3.75 |
| | | テルモ | 0.21 | 1.89 | 2.43 | 3.28 |
| | 血漿 | 川澄 | 0.49 | 1.76 | 2.31 | 2.87 |
| | | JM S | 0.62 | 2.59 | 2.66 | 2.69 |
| | | テルモ | 0.47 | 2.47 | 2.66 | 3.28 |
| 活性炭デシケータ | 赤血球 | 川澄 | 0.12 | 1.11 | 1.31 | 1.89 |
| | | JM S | 0.21 | 1.83 | 1.85 | 3.42 |
| | | テルモ | 0.42 | 1.67 | 2.08 | 3.34 |
| | 血漿 | 川澄 | 0.50 | 2.18 | 2.32 | 2.87 |
| | | JM S | 0.69 | 2.58 | 2.65 | 3.37 |
| | | テルモ | 0.56 | 2.34 | 2.65 | 3.34 |

| トルエン (n=1) | | | 単位 ; ppb | | | |
|------------|------|------|----------|------|------|------|
| 保存場所 | 測定試料 | メーカー | 保存期間 (日) | | | |
| | | | 0 | 7 | 14 | 21 |
| 血液製剤保管庫 | 赤血球 | 川澄 | 2.8 | 8.3 | 11.2 | 14.7 |
| | | JM S | 1.8 | 5.6 | 8.6 | 10.2 |
| | | テルモ | 1.0 | 3.3 | 11.1 | 12.7 |
| | 血漿 | 川澄 | 4.5 | 12.3 | 21.6 | 26.9 |
| | | JM S | 3.6 | 10.7 | 20.5 | 26.6 |
| | | テルモ | 1.0 | 5.1 | 13.2 | 21.5 |
| 活性炭デシケータ | 赤血球 | 川澄 | 3.1 | 10.2 | 15.0 | 16.4 |
| | | JM S | 6.5 | 14.1 | 15.6 | 17.6 |
| | | テルモ | 1.0 | 1.0 | 2.3 | 2.3 |
| | 血漿 | 川澄 | 5.9 | 13.1 | 16.1 | 24.4 |
| | | JM S | 13.6 | 38.5 | 45.0 | 43.7 |
| | | テルモ | 1.0 | 1.7 | 2.0 | 2.0 |

表 3 CPD 液の分析結果

| メーカー | 試料数 | | THF (ppm) | 2-EH (ppm) | トルエン (ppb) |
|------|-----|--------|-----------|------------|------------|
| 川澄 | 10 | 平均値±SD | 37.4±6.0 | 0.46±0.02 | 1.13±0.27 |
| | | 範囲 | 24.9~44.8 | 0.42~0.51 | 0.85~1.55 |
| JMS | 10 | 平均値±SD | 1.96±0.28 | 0.40±0.22 | 3.10±1.39 |
| | | 範囲 | 1.33~2.35 | 0.38~0.44 | 0.75~4.75 |
| テルモ | 10 | 平均値±SD | 0.79±0.25 | 0.25±0.04 | 0.11±0.02 |
| | | 範囲 | 0.51~1.40 | 0.18~0.30 | ND~0.14 |

ND : 0.1ppb未満 (トルエン)

表 4 血液製剤の分析結果

| 製剤名 | メーカー | 試料数 | | THF (ppm) | 2-EH (ppm) | トルエン (ppb) |
|-----|-------|-----|--------|-------------|------------|------------|
| 赤血球 | 川澄 | 14 | 平均値±SD | 63.5±6.7 | 0.88±0.26 | 4.7±3.0 |
| | | | 範囲 | 51.4~76.9 | 0.62~1.45 | ND~11.3 |
| | テルモ | 29 | 平均値±SD | 0.71±0.18 | 1.14±0.47 | 4.0±1.5 |
| | | | 範囲 | 0.40~1.06 | 0.49~1.15 | 2.1~8.1 |
| 血漿 | 川澄 | 18 | 平均値±SD | 30.3±5.7 | 1.68±0.35 | 9.7±3.0 |
| | | | 範囲 | 20.0~39.9 | 1.01~2.49 | 4.4~14.3 |
| | テルモ | 29 | 平均値±SD | 0.36±0.07 | 1.50±0.48 | 6.4±4.3 |
| | | | 範囲 | 0.18~0.47 | 0.89~2.37 | 2.4~16.2 |
| 血小板 | 川澄 | 14 | 平均値±SD | 0.071±0.093 | 2.03±0.37 | 30.6±23.1 |
| | | | 範囲 | 0.007~0.352 | 1.47~2.93 | 10.2~92.2 |
| | バクスター | 5 | 平均値±SD | 0.231±0.361 | 2.89±0.51 | 26.2±8.4 |
| | | | 範囲 | 0.026~0.873 | 2.34~3.50 | 17.2~39.1 |
| | コープ | 4 | 平均値±SD | 0.134±0.114 | 1.63±0.19 | 29.8±11.1 |
| | | | 範囲 | 0.070~0.306 | 1.39~1.80 | 22.3~46.3 |

ND : 1.0ppb未満 (トルエン)

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

| 発表者氏名 | 論文タイトル名 | 発表雑誌名 | 巻号、ページ、 出版年 |
|--|--|-----------------------------|------------------------|
| 山口照英 | ヒト由来細胞・組織利用医薬品等の品質及び安全性確保について. | ファルマシア | 38、523-525 (2002) |
| 早川堯夫、山口照英、石井(渡部)明子、押澤 正 | 核酸増幅法によるウイルスゲノム等検出に関するフィージビリティスタディ | 医薬品研究 | 33、275-284 (2002) |
| 早川堯夫、山口照英、押澤 正 | 日局生物薬品の品質・安全性確保に関する研究 —ウイルス安全性確保の基本要件— | 医薬品研究 | 33、210-230 (2002) |
| K. Inoue, H. Okumura, T. Higuchi, H. Oka, Y. Yoshimura and H. Nakazawa | Characterization of the estrogenic containers in medical polyvinyl- chloride tubing by gas chromatography - mass spectrometry and estrogen receptor binding assay | <i>Clin. Chim. Acta</i> | 325, 157-163 (2002) |
| K. Inoue, M. Kawaguchi, F. Okada, Y. Yoshimura, and H. Nakazawa | Column-switching high-performance liquid chromatography - electrospray mass spectrometry with on-line coupling of extraction for the determination of mono- and di-(2-ethylhexyl) phthalate in blood samples | <i>Anal. Bioanal. Chem.</i> | 375, 527-533 (2003) |

20021039

以降は雑誌/図書に掲載された論文となりますので、
P.86の「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。